

# Impacto de las Variables Pre Analíticas en la Interpretación de los Resultados: Casos Clínicos

**Jose C. Jara Aguirre, M.D., D(ABP), FASCP, FACS FCAP.**

Director Médico, Laboratorio Core Química Clínica y Point of Care Testing

División de Patología y Medicina de Laboratorio

Children's National Hospital

Profesor Asistente, Departamento de Patología y Pediatría

Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud

The George Washington University

Washington, DC USA



Octubre 2024



# DECLARACION DE CONFLICTO DE INTERES

- Ninguno.

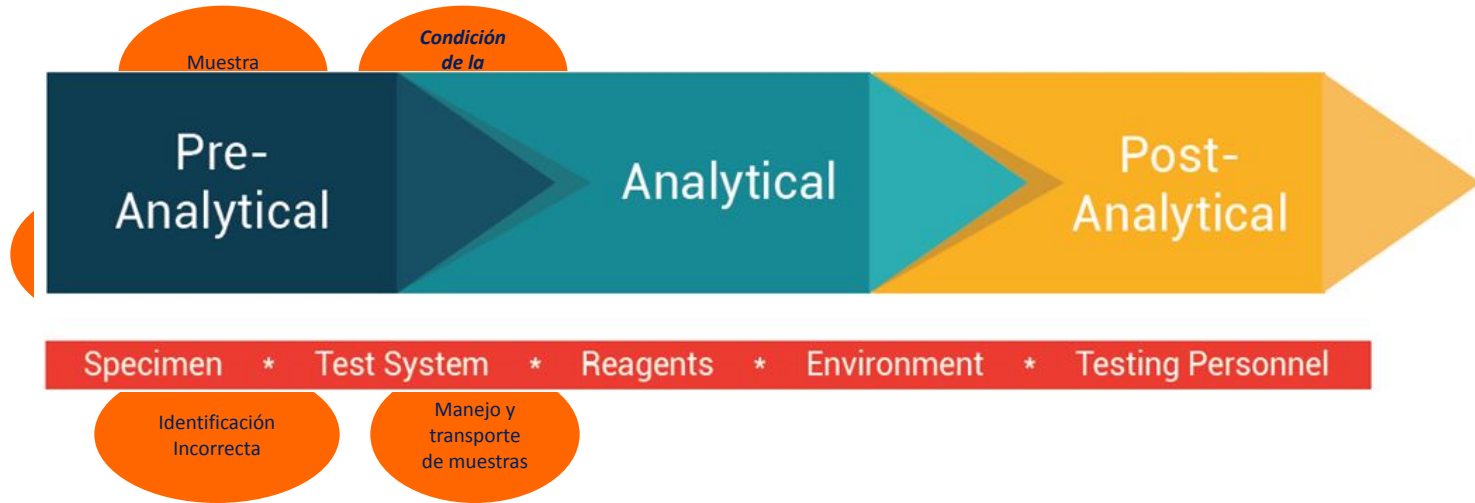


# Objetivos:

- Proceso total de análisis en el Laboratorio Clínico:
  - Comprender los errores en la fase preanalítica, analítica y post analítica y su impacto clínico
  - Reconocer el riesgo de reportar resultados de laboratorio con errores
- Casos desafiantes más frecuentes en la práctica de Química Clínica relacionados a la fase preanalítica
- Enumerar las causas potenciales más comunes que pueden afectar la interpretación de los resultados en Química Clínica
  - Causas Endógenas vs Exógenas,
  - Como detectarlas y prevenirlas
- Un enfoque practico de investigación
  - Determinar cuándo un resultado debería o no ser reportado



# Errores en el Proceso Total del Análisis en el Laboratorio Clínico



# Riesgo de reportar resultados de laboratorio con error

- Un resultado de laboratorio erróneo:
  - No refleja la concentración del analito in vivo
  - Puede ser analíticamente correcto y reproducible, pero no representa la condición clínica o in vivo de paciente
  - Llevando a:
    - Realizar pruebas adicionales innecesarias
    - Decisiones clínicas inapropiadas, tratamientos y potencialmente puede impactar en resultado clínico del paciente



# Caso 1

- Varón de 49 años, con antecedente de Leucemia Linfocítica Crónica (CLL) que acudió a Urgencias por presentar disnea de esfuerzo y fatiga.
- Los signos vitales fueron normales. El examen físico mostró un hombre de buen aspecto sin angustia aguda que hablaba frases completas cómodamente, esclera pálida y hepatoesplenomegalia sin rebote ni protección. EKG normal
- Resultados de Laboratorio:

Prueba	Resultado	Rango Referencia
Na+	137 mmol/L	135 – 145 mmol/L
K+	6.9 mmol/L	3.6 – 5.2 mmol/L
Glucosa	105 mg/dL	60-99 mg/dL
Creatinine	1.1 mg/dL	0.66-1.25 mg/dL
BUN	24 mg/dL	9 -20 mg/dL
Calcio	10.1 mg/dL	9.6 – 10.6 mg/dL
Acido urico	6.4 mg/dL	3.5 – 7.2 mg/dL

*El K<sup>+</sup> debería o no reportarse?*



# Principales causas de Hiperkalemia (K<sup>+</sup>)

Mecanismo	Principales causas
Incremento de K <sup>+</sup> , liberado de la células (Salida de K <sup>+</sup> de las células)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Acidosis Metabolica</li><li>• Deficiencia de Insulina, hiperglicemia, hipertonicidad</li><li>• Incremento en el catabolismo celular:<ul style="list-style-type: none"><li>• Rabdomiolisis / Trauma</li><li>• Síndrome lisis tumoral</li><li>• Anemia hemolitica masiva</li><li>• Necrosis tisular</li></ul></li><li>• Pseudohiperkalemia (PH) / PH reversa</li></ul> Otros: toxicidad por digitalicos, transfusion GR
Retencion de K <sup>+</sup> (reduccion de la excrecion urinaria)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Reduccion secrecion/actividad aldosterone<ul style="list-style-type: none"><li>• Enf. Addison, inhibidores ACE</li></ul></li><li>• Diureticos ahorradores K<sup>+</sup>, ex. Spironolactone, etc.</li><li>• Acute and Chronic renal disease</li></ul>
Exceso en el consumo de K <sup>+</sup>	Casi siempre en casos de excreción renal alterada de potasio



# Pseudohiperkalemia (Falsa elevación K+)

Problema muy comun con muchas causas potenciales:

- Hemolisis de:
  - Uso de jeringa, extracción de la línea, aguja de diámetro pequeño o grande, inversion de tubo con demasiada fuerza o insuficiente, llenado insuficiente del tubo
- Fuga de K+ de los glóbulos rojos debido a la condición del paciente
  - Psuedohiperkalemia familiar
- Fuga de K+ de los globulos blancos debido a la condición del paciente
- Interferencias analiticas
  - Iodo-povidona
- Variables preanaliticas (no-hemoliticas)
  - Hacer puño, tiempo de torniquete prolongado, temperatura o condiciones de transporte, incorrecto o centrifugación repetida, demora en la separación de suero / plasma, contaminación de la muestra (orden de extracción de tubos)



# Hemolisis: Definición y clasificación

- La hemólisis es la liberación de hemoglobina y otros componentes intracelulares de los eritrocitos al plasma circundante, debido a un daño o ruptura de la membrana celular.
- La hemólisis puede resultar de:

Hemolisis In vivo (only 2%)
Mecanica/valvulas cardiacas/cirugia CV
Hereditaria / hemoglobinopatias
Anemia Hemolitica, Enf. Hemolitica del recién nacido
Reacciones Transfusionales, CID, syndrome HELLP
Pacientes en ECMO o bypass

Hemolisis In vitro
Problemas en la recolección de muestras Aguja / jeringa de calibre pequeño, obstrucción, intentos insatisfactorios, etc.
Agitación o mezcla excesiva de la sangre después de la extracción.
Exposición excesivamente al frío o calor, centrifugación a una velocidad demasiado alta
Transporte en el sistema neumático, Muestra lipémica



## ....Regresando al Caso 1

- Varón de 49 años, con antecedente de **Leucemia Linfocítica Crónica (CLL)** que acudió a Urgencias por presentar disnea de esfuerzo y fatiga.
- Los signos vitales fueron normales. El examen físico mostró un hombre de buen aspecto sin angustia aguda que hablaba frases completas cómodamente, esclera pálida y hepatoesplenomegalia sin rebote ni protección. **EKG normal**

Prueba	Resultado	Rango Referencia
Na+	137 mmol/L	135 – 145 mmol/L
K+	6.9 mmol/L	3.6 – 5.2 mmol/L
Glucosa	105 mg/dL	60-99 mg/dL
Creatinine	1.1 mg/dL	0.66-1.25 mg/dL
BUN	24 mg/dL	9 -20 mg/dL
Calcio	10.1 mg/dL	9.6 – 10.6 mg/dL
Acido urico	6.4 mg/dL	3.5 – 7.2 mg/dL

Indice H : 55 (<125 for K<sup>+</sup>)  
No hemolisis

*K<sup>+</sup> debio o no reportarse?*

# ....Regresando al Caso 1 : Pseudohiperkalemia Reversa

Dia	1		2		3
Hora	21:45	22:35	05:15	12:49	13:39
Tipo de muestra	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Potasio (mmol/L)	6.9	7.7	9.2	6.2	6.3

Indice H : 55 (<125 for K<sup>+</sup>)  
No hemolisis

Que informacion deberia haberse revisado antes de liberar estos resultados de K<sup>+</sup>?

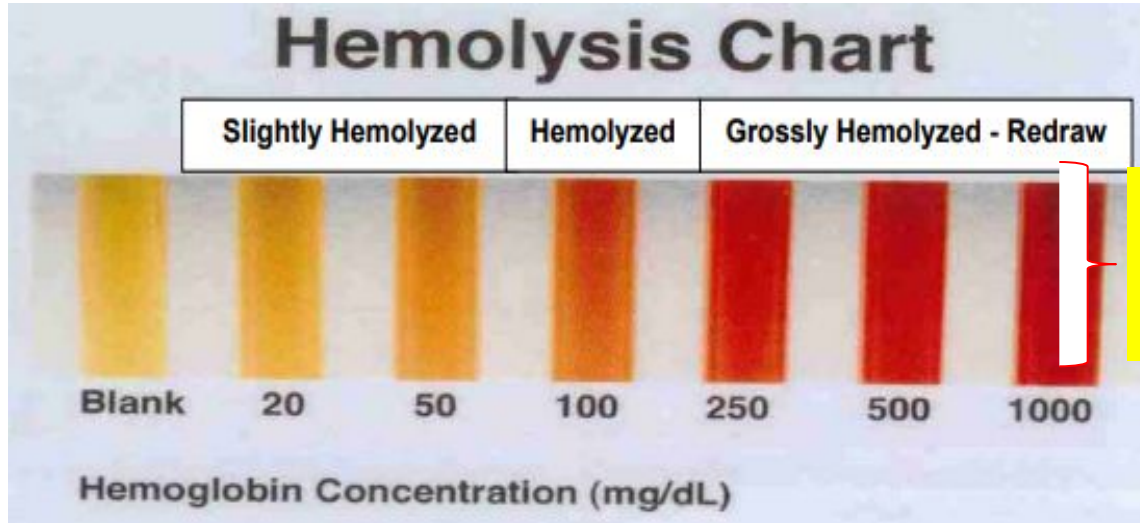
Hemograma (CBC)	Resultado	Rango Referencia
Hemoglobina (g/dL)	11	13.0 – 17.0
WBC (cells/mm <sup>3</sup> )	65 000	4000 – 10 000
% Neutrofilos	5	
% Linfocitos	83	
% Monocitos	12	
Plaquetas (cells/mm <sup>3</sup> )	108	150 000-450 000

Condicion	Suero K <sup>+</sup>	Plasma K <sup>+</sup>
Hiperkalemia verdadera	Elevado	Elevado
Pseudo hiperkalemia Reversa	Normal	Falsamente elevado



# Hemolysis: Deteccion Automatizada de la Calidad de la Muestra

- La hemólisis es frecuente y la prevalencia puede llegar al 3,3% de todas las muestras de rutina



Lectura bicromatica:

- H: 570-600nm
- I: 480-505nm
- L: 660-700nm

Optical detection



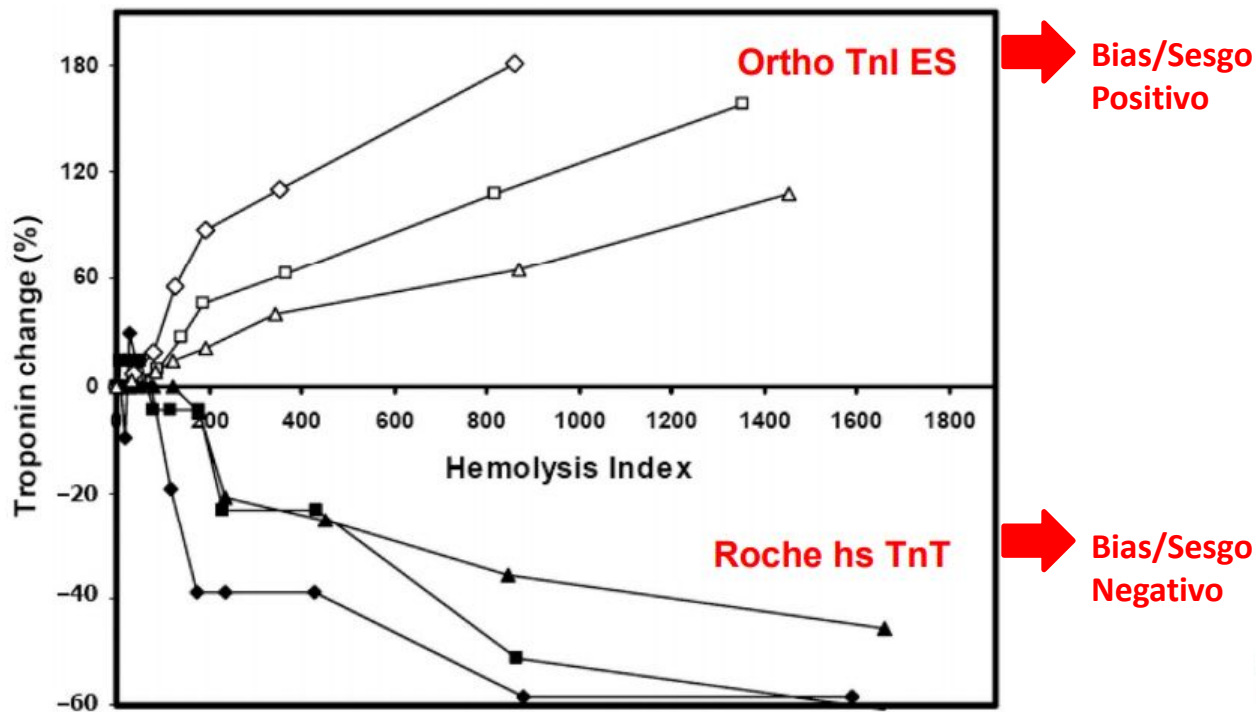
Unsuitable for testing

**Table 1** Laboratory parameters affected by haemolysis and/or blood cell lysis in the specimen.

Parameter	Bias	Cause
Adrenocorticotrophic hormone	Negative	Proteolysis
Activated partial thromboplastin time	Negative	Release of thromboplastic substances
Antithrombin	Negative	Analytical interference
Aspartate aminotransferase	Positive	Cellular release
Alanine aminotransferase	Positive	Cellular release
Albumin	Negative	Dilution
Alkaline phosphatase	Negative	Analytical interference
Bilirubin (neonatal)	Variable	Analytical interference
Bilirubin (total)	Negative	Analytical interference
Calcitonine	Positive	Proteolysis
Chloride	Negative	Dilution
Cortisol	Negative	Analytical interference
Creatine kinase	Positive	Analytical interference
Creatinine	Positive	Analytical interference
D-dimer	Positive	Release of thromboplastic substances
Fibrinogen	Negative	Release of thromboplastic substances
Folate	Positive	Cellular release
$\gamma$ -Glutamyltransferase	Negative	Analytical interference
Gastrin	Negative	Proteolysis
Glucagon	Negative	Proteolysis
Glucose	Negative	Dilution
Haptoglobin	Negative	Analytical interference
Homocysteine	Negative	Analytical interference
Insulin	Negative	Proteolysis
Iron	Positive	Analytical interference
Lactate dehydrogenase	Positive	Cellular release
Lipase	Positive	Analytical interference
Magnesium	Positive	Cellular release
Parathormon	Negative	Proteolysis
Phosphorus	Positive	Cellular release
Potassium	Positive	Cellular release
Prostate specific antigen	Positive	Analytical interference
Prothrombin time	Positive	Release of thromboplastic substances
Sodium	Negative	Dilution
Urea	Positive	Cellular release
Testosterone	Negative	Analytical interference
Troponin I	Positive	Analytical interference
Troponin T	Negative	Analytical interference
Vitamin B12	Negative	Analytical interference

# ¿Son necesarios estos índices para inmunoensayos en química clínica?

- Efecto de la Hemolisis en marcadores cardiacos Troponin I and T



## Caso 2:

- Varón de 2 años, con antecedentes de síndrome de corazón izquierdo hipoplásico, estado postrasplante de corazón.
  - Insuficiencia renal aguda (anuria),
  - Necrosis de su intestino y tuvo una colectomía con ileostomía el mes pasado.
- El pedido de laboratorio incluye: CBC, ELP con creatinina Jaffe, Calcio total, Calcio ionizado, Mg, P, Lactato, CG4+ POC y ABG
- Recolección de la línea venosa y **sin hemólisis en la muestra**

Prueba	Resultado	Rango de Referencia
K+	11.2 mmol/L	3.6 – 5.2 mmol/L
Calcio Total	<1.0 mg/dL	9.6 – 10.6 mg/dL
Magnesio	<0.5 mg/dL	1.6 – 2.7 mg/dL
Fosforo	3.9 mg/dL	4.3 – 5.4 mg/dL

*El K<sup>+</sup> debería o no reportarse?*



## ....Regresando al Caso 2: Pseudohiperkalemia – contaminación EDTA

Varón de 2 años, con antecedentes de síndrome de corazón izquierdo hipoplásico, estado postrasplante de corazón.

- Insuficiencia renal aguda (anuria),
- Necrosis de su intestino y tuvo una colectomía con ileostomía el mes pasado.
- El pedido de laboratorio incluye: CBC, ELP con creatinina Jaffe, Calcio total, Calcio ionizado, Mg, P, Lactato, CG4+ POC y ABG
- Recolección de la línea venosa y **sin hemólisis en la muestra**

Prueba	Resultado-cancelado
K+	11.2 mmol/L ←
Calcio Total	< 1.0 mg/dL ←
Magnesio	<0.5 mg/dL ←
Fosforo	3.9 mg/dL ←

Indice H: 35 (<125 for K<sup>+</sup>)  
No hemolisis

La contaminación por EDTA no es infrecuente



Children's National™



# Cumplimiento de los procedimientos de muestreo de sangre con las directrices CLSI H3-A6:

**Table 3** Audit results. Frequency of errors observed during phlebotomies (n=336) and their assessed respective severity scores, along with the calculated differences between patient settings and various professions.

Q	Question	Severity score	Rationale	Error frequency, %	Probability of error occurrence	Overall risk rating	Difference between settings p <sup>a</sup>
1	Did the collector assemble all necessary supplies prior to collection?	S1	No real harm	3.6	02	S102	<0.001
2	Did the collector have an identified request form?	S4	Incorrect patient identification, therefore incorrect treatment or transfusion	10.5	03	S403	<0.001
3	Did the collector check the expiry dates of devices in use?	S3	Expire stock may result in underfilled tubes or reduced potency of additives	71.9	05	S305	0.657
4	Did the collector identify the patient according to CLSI or local guidelines	S5	Incorrect patient identification, therefore incorrect treatment or transfusion	16.1	03	S503	0.011
5	Did the collector appropriately sanitize hands?	S2	Potential patient infection	25.8	04	S204	0.118
6	Did the collector verify that the patient was properly prepared for phlebotomy?	S3	May impact sample results	31.3	04	S304	0.003
7	Was the chair used for venipuncture specific to the task?	S2	Risk of injury to patient, e.g., falling from chair	51.2	05	S205	<0.001
8	If lying, did the collector ensure the arm was appropriately positioned?	S2	Potential for back flow with poor technique	10.6	03	S203	<0.001
9	Did the collector place the tourniquet 4 finger widths (10 cm) above the venipuncture site?	S2	Elevate or suppressed analytical results	11.3	03	S203	0.008
10	Did the collector select a suitable venipuncture site according to standard practice?	S3	Poor sample quality or collection site complications	0.3	01	S301	0.157
11	Did the collector put on a new, fresh clean pair of gloves?	S2	Potential patient infection	52.5	05	S205	0.005
12	Did the collector clean the venipuncture site?	S3	Potential patient infection	13.0	03	S303	0.373
13	Did the collector leave the venipuncture site to dry (30 s)?	S2	Potential patient infection	37.0	04	S204	<0.001
14	Did the collector leave the venipuncture site untouched post cleaning?	S3	Potential patient infection	44.5	04	S304	0.090
15	Did the collector ensure a fist was released when blood flow commenced?	S3	May impact sample results	38.7	04	S304	0.004
16	Did the collector release the tourniquet when blood flow commenced?	S3	May impact sample results	43.0	04	S304	0.144
18	Did the collector follow the correct order of draw according to the guidelines?	S2	May impact sample results	8.1	02	S202	0.004
19	Were all sample tubes immediately and appropriately mixed according to manufacturer's specifications?	S3	May impact sample results	30.4	04	S304	0.001
21	Did the collector place a clean gauze or cotton ball over the venipuncture site?	S2	Potential patient infection/collection site complications	11.9	03	S203	0.370



# Que tan frecuente es la pseudohiperkalemia por contaminación por EDTA?

Un Estudio observacional multicéntrico que evaluó hiperpotasemia espuria debida a contaminación con EDTA: 5 Hospital en Reino Unido, 1 mes, K  $+>$  6 mmol / L

Table 1. Prevalence of spurious hyperkalaemia due EDTA contamination in one month in five different laboratories.

Lab	Tube Type	U&Es	Hyperkalaemic	EDTA +ve	EDTA +ve Identified by lab staff	%Hyperkalaemic EDTA +ve
1	Sarstedt	26201	300	20	NA	6.7
2	Sarstedt	23818	110	5	NA	4.6
3	Greiner	32764	200	3	0	1.5
4	Greiner	18697	163	2	1	1.2
5	B-D	30344	140	7	4	5.0
Total	-	131824	913	37	-	4.1

***La contaminación de la muestra con EDTA no es infrecuente y puede pasar desapercibida***

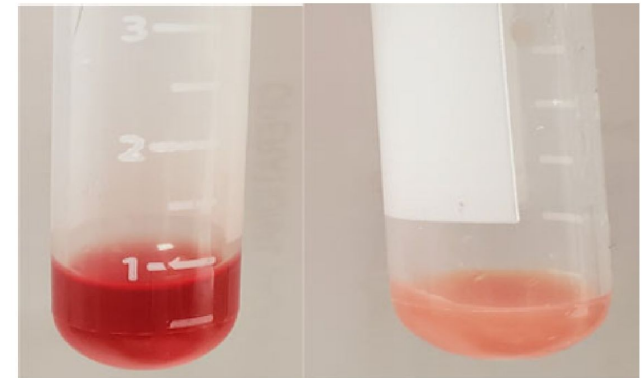
*En dos laboratorios, sin detección de rutina con EDTA, el personal del laboratorio identificó alrededor del 50% "contaminadas con EDTA", el 50% restante de las muestras no se detectaron y se notificaron como hiperpotasemia genuina.*



# Caso 3: Resultados de Laboratorio de dos pacientes

Analisis	Paciente 1	Paciente 2	Rangos Referencia
Na+ (meq/L)	139	142	135-145
K+ (meq/L)	Hemolisis	Hemolisis	3.5-5.0
Cl- (meq/L)	99	101	95-107
BUN (mg/dL)	17	9	10-20
Creatinine (mg/dL)	0.8	0.5	0.6-1.2
Glucosa (mg/dL)	96	171	65-100
Troponina (ng/mL)	Hemolisis	Hemolisis	< 0.03
Amilasa (U/L)	NA	1320	30- 110
Lipasa (U/L)	NA	2255	5 -208
AST (U/L)	NA	Lipemia	<32
Trigliceridos (mg/dL)	NA	1852	< 150

<u>Indices</u>	
H: 450 (<125 for K <sup>+</sup> )	H: 150 (<125 for K <sup>+</sup> )
Hemolisis	Hemolisis
L : 5	L:800
No lipemia	Lipemia



**Patient 1**

**Patient 2**



# Como resolver los casos de muestras lipemicas?

- Ultra centrifugación (100,000– 2.000,000 x *g*.)
- Centrifugación a alta velocidad con fuerza de 10,000 x *g*, puede ser casi tan eficiente como la ultracentrífuga para eliminar la capa de lípidos
- Algunos laboratorios aun usan protocolos de extracción con poliethylene glicol o ciclodextrina
- Este principio de extraccion esta disponible comercialmente

Lipoclear (StatSpinR, Norwood, MA, USA)  
Es ampliamente usado, el reactivo continene  
ploimeros no-inicos, no toxicos que se unen a  
lipidos





## Removing Lipemia in Serum/Plasma Samples: A Multicenter Study

**Table 1.** Comparison between ultracentrifugation and high-speed centrifugation for removing lipemia in serum/plasma samples (N=32)

Biochemical parameter	Mean (SD) Ultracentrifugation	Mean (SD) High-speed centrifugation	<i>P</i> *	LCSI
Sodium ion; c.sust. (mmol/L)	141.52 (4.59)	141.03 (4.88)	<0.05	1.27
Potassium ion; c.sust. (mmol/L)	4.66 (0.64)	4.98 (0.68)	0.52	0.34
Chloride ion; c.sust. (mmol/L)	102.63 (4.96)	102.31 (5.17)	<0.05	0.61
Glucose; c.sust. (mmol/L)	10.00 (5.13)	9.93 (5.05)	<0.05	0.28
Protein; c.mass (g/L)	73.58 (4.33)	73.22 (4.49)	0.09	0.99
Albumin; c.mass (g/L)	44.00 (1.60)	43.75 (1.67)	0.35	0.68
Creatinine; c.sust. (μmol/L)	77.26 (21.48)	76.93 (21.57)	0.22	1.77
Urea; c.sust. (mmol/L)	35.53 (13.19)	35.41 (13.03)	0.40	3.97
Alkaline phosphatase; c.cat. (μkat/L)	1.46 (0.36)	1.46 (0.36)	0.16	0.048
Gamma-glutamyl transferase; c.cat. (μkat/L)	1.44 (1.49)	1.43 (1.50)	0.08	0.988
Calcium; c.sust. (mmol/L)	2.41 (0.11)	2.41 (0.11)	0.94	0.09
Bilirubin; c.sust. (μmol/L)	4.96 (2.37)	4.59 (2.21)	<0.05	0.684
Alanine-aminotransferase; c.cat. (μkat/L)	0.61 (0.32)	0.59 (0.30)	<0.05	0.073
Aspartate-aminotransferase; c.cat. (μkat/L)	0.47 (0.24)	0.47 (0.24)	0.38	0.028

\*This value was calculated using a paired t-test.

Abbreviations: LCSI, limit for clinically significant interference; c.sust., concentration of substance; c.cat., catalytic concentration.



## Caso 4:

- Paciente varón 55 años, con diagnóstico de DM e HTA, es traído por un familiar por haber presentado fiebre persistente, escalofríos y pérdida de conciencia.
- Al examen físico, hipotenso, sudoroso, pálido e inconsciente.
- El médico de la emergencia le solicita pruebas de lab STAT
- Luego es admitido a la UCI donde recibe medicación vasopresora por vía central.

Resultados de Laboratorio:

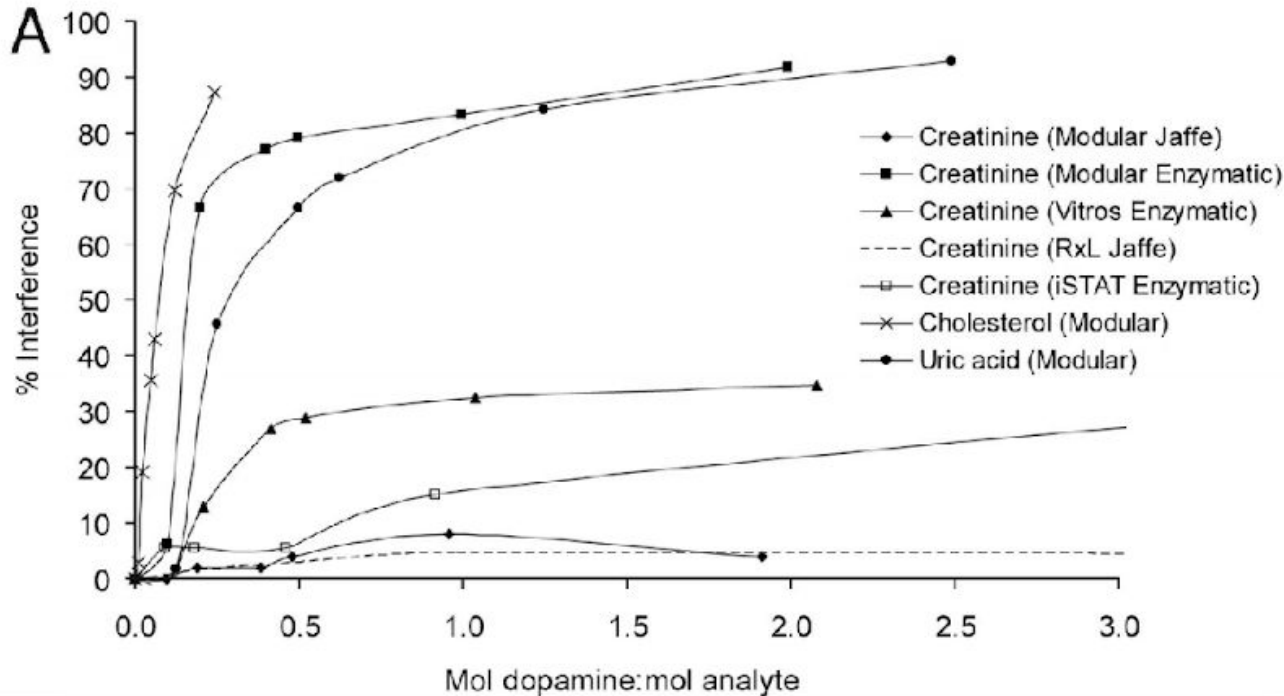
Prueba	Resultado Emergencia	Resultado UCI	Rango Referencia
Creatinina	2.3	1.1	0.6 –1.0 mg/dL
Urea	80	75	20-40 mg/dL
Glucosa	200	185	70- 100 mg/dL
Na+	135	137	135-145 mmol/L
K+	4	3.8	3.5 -5.5 mmol/L

Método Enzimático de Creatinina (Roche Modular)



Children's National™

# Efecto de Dopamina (catecolaminas/vasopresores) en el Método de Creatinina Enzimatico



A un ratio de 0.25 molar de dopamina por mol creatinine:

- Roche Modular enzymatico produce 67% interferencia,
- Vitros enzymatic 13%
- i-STAT enzymatic 6%
- RxL Jaffe 2%
- Roche Modular Jaffe 2%

## Case 5:

- Una mujer de 36 años con diagnóstico de mola hidatiforme, enfermedad trofoblástica gestacional no neoplásica, fue tratada con éxito con una evacuación uterina quirúrgica.
- El seguimiento del paciente con niveles seriados de gonadotropina coriónica humana (hCG) muestra después de varias semanas de concentraciones decrecientes de hCG, una hCG baja persistentemente sin cambios durante las dos últimas mediciones (~50 UI/L).

*Esat ultima medicion de hCG deberia o no ser reportada?*

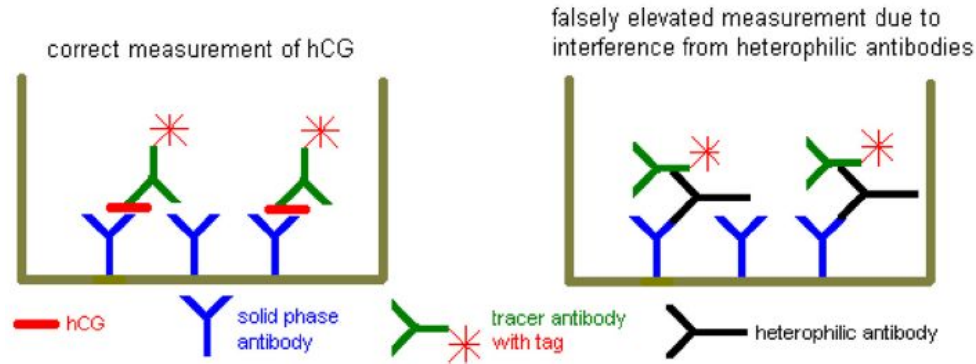
*Dado este escenario, ¿cuál es la interpretación o interpretaciones de laboratorio más probables para esta hCG persistentemente baja (50 UI / L)?*

*Presencia de anticuerpos heterofilicos*



# Anticuerpos Heterofilicos (HAb):

- HAb son anticuerpos humanos dirigidos contra antígenos de origen animal utilizados en los inmunoensayos.
- En los ensayos inmunométricos de hCG, HAb pueden formar un puente entre el anticuerpo de captura y detección, lo que da lugar a un resultado falso positivo en ausencia de hCG



Debe sospecharse interferencia de HAb cuando los resultados de hCG son inconsistentes con los hallazgos clínicos y idealmente se debe contactar al laboratorio para realizar una investigación



## **Human chorionic gonadotropin suspected heterophile interference investigations in immunoassays: a recommended approach**

- a) Tratamiento de la muestra con reactivos bloqueantes de HAb disponibles comercialmente para eliminar o preabsorber el HAb de la muestra antes de realizar la prueba;
- b) Dilución en serie de la muestra para evaluar si la disminución en la concentración de hCG no es lineal, una propiedad que es sospechosa de presencia de HAb;
- c) Prueba con un inmunoensayo diferente o una metodología alternativa



Jose C. Jara-Aguirre, Nikola A. Baumann, Darci R. Block and Alicia Algeciras-Schimnich\*

## Human chorionic gonadotropin suspected heterophile interference investigations in immunoassays: a recommended approach

- De 113 solicitudes de investigación para HAB

**Table 1:** hCG interference positive cases (n=5) where an interference was detected using blocking reagents (HBR/HBT), alternative methodology, and/or serial dilutions.

Sample	hCG untreated, IU/L	hCG treated with HA blockers, IU/L	% Difference	Absolute difference, IU/L	Alternative method, IU/L	Dilution linearity (recovery between 80 and 120%)
1	5.5 <sup>a</sup>	2.7	-51.0%	2.80	<1.0 <sup>c</sup>	NA
2	9.0 <sup>a</sup>	3.2	-64.0%	5.80	<1.0 <sup>c</sup>	NA
3	13.0 <sup>b</sup>	2.59	-80.0%	10.41	1.1 <sup>a</sup>	Yes
4	50.0 <sup>b</sup>	52	3.1%	-2.00	1.74 <sup>a</sup>	No
5	56.0 <sup>a</sup>	45	-19.6%	11.00	<1.0 <sup>c</sup>	No

NA, not performed, not enough sample. <sup>a</sup>Beckman; <sup>b</sup>Roche; <sup>c</sup>Immulite.

- Este estudio demuestra que los resultados discrepantes de hCG medidos utilizando un método de inmunoensayo alternativo fue el mejor predictor individual de la interferencia de hCG HAB.
- Los reactivos de bloqueo HBR / HBT no lograron detectar el 40% de los casos y no deben usarse solos o como única alternativa para estas investigaciones.
  - El uso de diluciones seriadas confirmó dos de tres casos con interferencia de HAB,
- Utilizar un único estudio para la solución de estos problemas **NO** garantizar la detección de todas las interferencias de hCG HAB



## Caso 6: Anti HAVT Falso reactivo/positivo

Hombre de 30 años, acude a la clínica después de 6 semanas de regresar de un viaje de 1 semana a Brasil para una evaluación de náuseas, vómitos, anorexia, malestar y dolor abdominal persistentes.

Antecedente: Dxn. Esclerosis múltiple, recibiendo suplementos de vitaminas.

No Transfusiones sanguíneas o uso reciente de drogas intravenosas.

Signos vitales: Normales

Examen general: Alerta, orientado, esclera no ictericia y el resto del examen físico normal

Resultados de Laboratorio:

Prueba	Resultado
Anti- HAVT	Reactivo
Anti-HAVM	Negativo
HBsAg	Negativo
Anti-HBc Total	Negativo
Anti-HBc Total IgM	Negativo
Anti-HBsAg	Reactivo

Prueba	Resultado
Total bilirubin	0.8 mg/dL
Direct bilirubin	0.3 mg/dL
ALT	25 U/L
AST	21 U/L
WBC	6500 cell/mm <sup>3</sup>
% Linfocitos	21%

*Son discordantes los resultados de  
Anti - HAVT and Anti- HAVM??*



# Evolución del virus de la hepatitis A

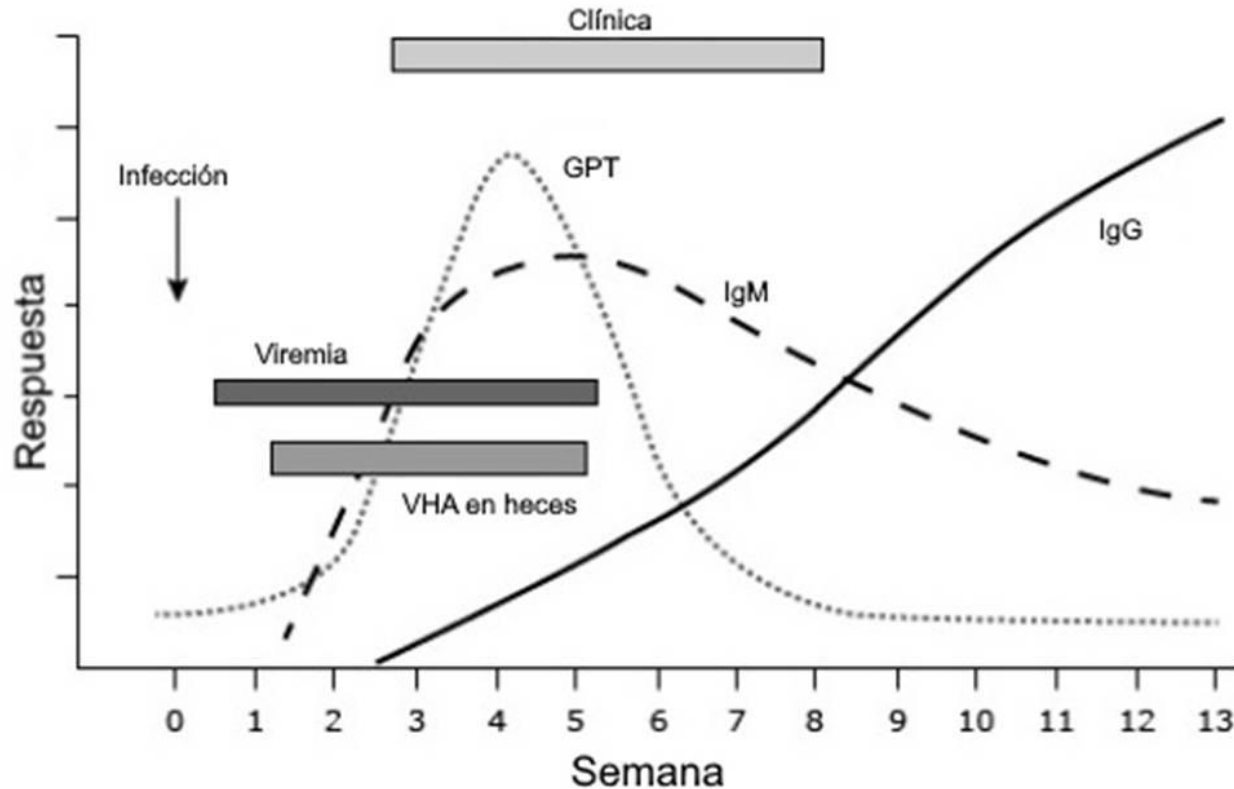


Figura 1. Evolución clínica y de marcadores de la infección por virus de la hepatitis A

VHA: virus de la hepatitis A; GPT: glutamato piruvato transaminasa; Ig: inmunoglobulina.

*Son discordantes los resultados de  
Anti - HAVT and Anti - HAVM??*

Prueba	Resultado
Anti- HAVT	Reactivo
Anti-HAVM	Negativo
HBsAg	Negativo
Anti-HBc Total	Negativo
Anti-HBc Total IgM	Negativo
Anti-HBsAg	Reactivo

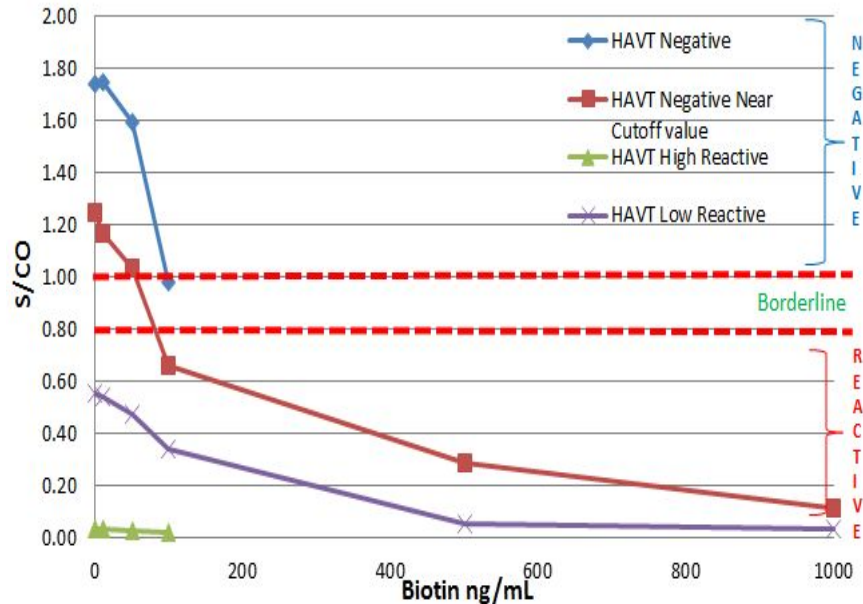


Children's National™

# VITROS HAVT

## Immunoensayo Competitivo

Efecto de Biotina en la prueba  
VITROS anti-HAVT



Efecto de la biotina sobre el VITROS HAVT en muestras de SUERO NEGATIVAS

Cambió la interpretación cualitativa de los resultados a **falso reactivo/positivo**.

### Evaluation of Interference between Biotin and the Streptavidin-Biotin-Based VITROS Hepatitis A-Specific Total and IgM Antibody Immunoassays

J. C. Jara Aguirre, J. D. Yao, N. A. Baumann, B. M. Katzman, T. J. Stier, E. S. Theel. *Department of Laboratory Medicine and Pathology, Mayo Clinic, Rochester, MN*

Assay	Expected qualitative result	Mean S/CO ratio observed in serum aliquots with the following biotin concentrations in ng/mL					
		0	10	50	100	500	1 000
HAVT	N	1.740	1.750	1.600	<b>0.980<sup>a</sup></b>	NT	NT
	N	1.250	1.170	<b>1.030<sup>a</sup></b>	<b>0.660<sup>a</sup></b>	<b>0.290<sup>a</sup></b>	<b>0.120<sup>a</sup></b>
	R	0.550	0.540	<b>0.470</b>	<b>0.340</b>	<b>0.050</b>	<b>0.035</b>
	R	0.030	0.030	<b>0.025</b>	<b>0.020</b>	NT	NT
HAVM	N	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
	R	1.670	1.670	1.630	1.600	1.640	1.620
	R	6.860	6.845	6.845	6.765	6.645	6.690

<sup>a</sup> >14% difference from corresponding ratio at 0 ng/mL;

<sup>a</sup> Change in qualitative interpretive result; N, Negative; R, Reactive; NT, not tested.

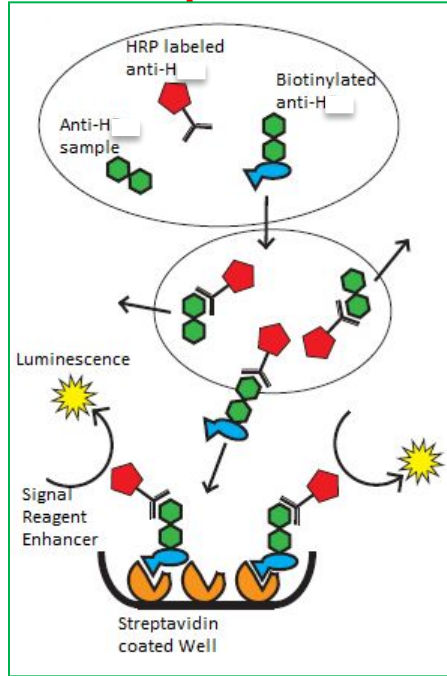
Interpretation of S/CO and CO/S:

- <0.8 = Negative
- ≥0.8 - ≤1.0 = Equivocal
- ≥1.0 = Reactive

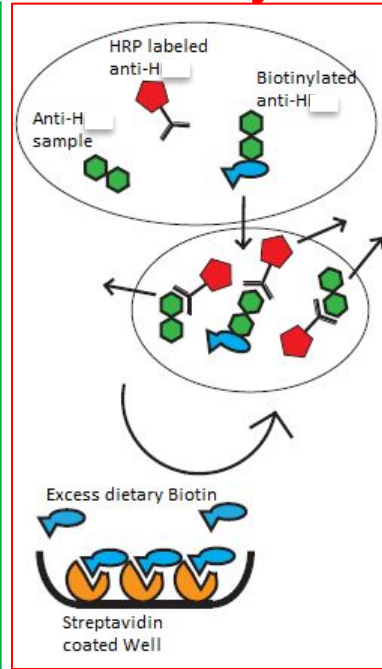


Children's National™

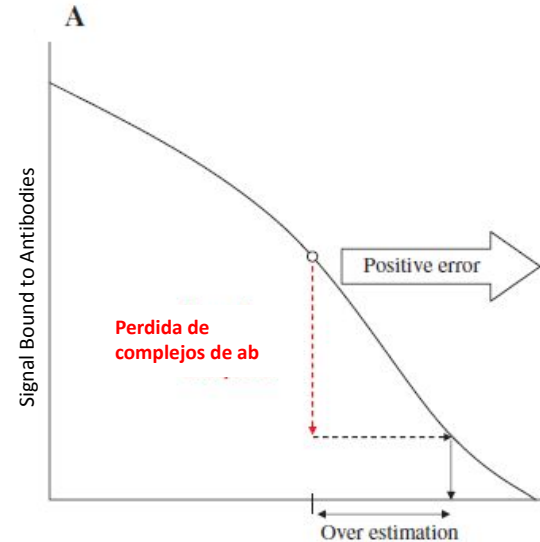
# Mecanismo de interferencia de biotina para inmunoensayos competitivos



Sin exceso de biotina en la muestra



Exceso de biotina en la muestra



Resultados Falsos Reactivos!



## Case 7: Resultados prolongados aPTT y PT

- Paciente varón de 17y/o con enfermedad cardiaca cianótica congénita, que tiene planeado un cirugía de bypass cardiaco

### Resultados preoperatorios:

- PT 14s (10-12s) (▲)
- aPTT 64s (25-40s) (▲▲)
- Plaquetas  $245 \times 10^9 /L$  (NL)
- Hgb & Hct 20.9 g/dL % 63% (▲▲)

Como proceder en estos casos desde el punto de vista de Laboratorio?

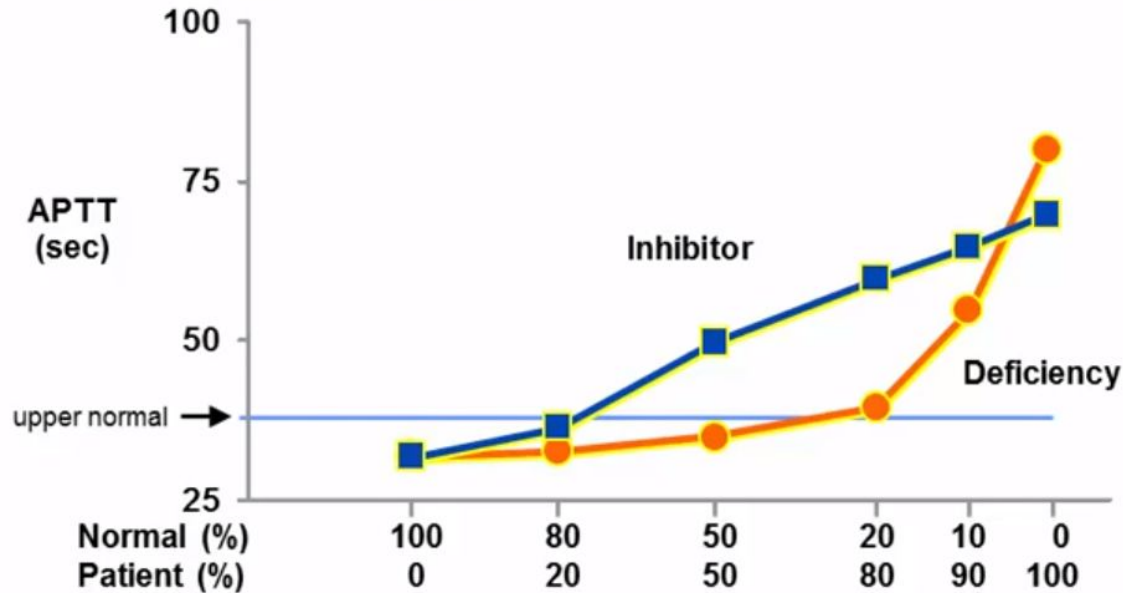


# Causas de tiempos de coagulación prolongados

- Deficiencia de factores de coagulación
- Inhibidores de la coagulación
- Ambos
- Causas preanalíticas

Inicialmente se requiere realizar estudios de mezcla para su correcta interpretación

# Interpretación de estudios de mezcla Inhibidores vs Deficiencia de factores



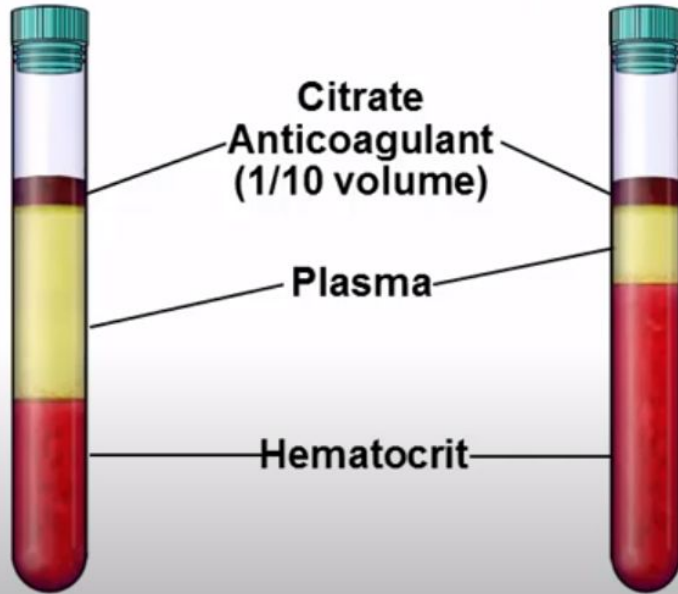
## SICKFAIL

- S**=Spurios / Prenanaliticas
- I**= Inhibidores
- C**=Congenitos/Hereditarios def factores
- K**= Def Vit K
- F**= Def Factores (adquiridos)
- A**=Anticoagulantes
- L**= Intravasular coag or Fibrinolisis or CID
- L**= enf hepatica

# Tubos de Citrato 3.2%

Normal Hematocrit

High Hematocrit



## Ajuste del anticoagulante

- En general si el Hct esta entre 55-65%, es aceptable remover 0.1 mL del anticoagulante citrato del tubo.
- Si el Hct >65% se debe usa esta formulas de corrección

# Causas Pre Analíticas

- Hematocrito abnormal
  - >55% o <25% ↑PT, aPTT
- Llenado de tubo incompleto
- Anticoagulante incorrecto
  - EDTA, heparina, suero
- Contaminacion con heparina
  - Muestra tomada de la linea
- Efecto de anticog medicados
  - Heparin, Warfarina, DTI
- Otros: Fribirroliticos
- Efectos transfusión
  - FFP, Cryo, Factor concentrado
- Venopuncion difícil
  - Cogulacion invitro
- Lipemia, hemolysis, ictericia
- Proteolisis caliente
  - Perdida factor VII & V : ↑ PT / aPTT
- Activacion fría
  - VII □ VIIa (acortamiento PT)
- Plaquetas residuales
  - ↓TT

# Caso 8 : Transferencia Transplacentaria de Macro TSH

- Neonato clinicamente eutiroides tiene valores repetidos de TSH en suero confirmado un valor de TSH de 826 mIU/L con un intervalo de referencia de 0.27–4.20 mIU/L y un valor normal de tiroxina libre (FT<sub>4</sub>)

Hipotiroidismo neonatal?

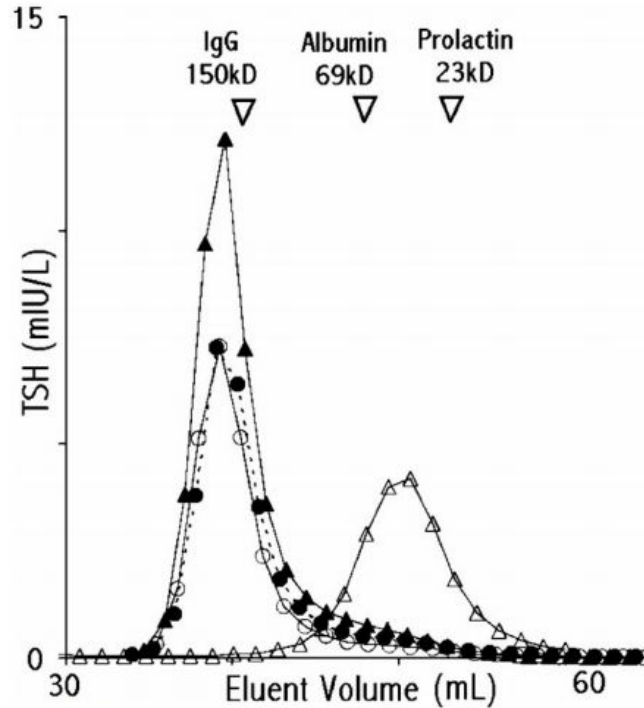


Fig. 1. Gel filtration chromatography of serum TSH.

Gel filtration chromatography of serum TSH in a control patient with increased TSH caused by hypothyroidism,  $\Delta$ - $\Delta$ : in the neonate,  $\circ$ - $\circ$ : and in the mother before,  $\bullet$ - $\bullet$  and after incubation with serum from a control with increased TSH,  $\blacktriangle$ - $\blacktriangle$ . The peak elution volumes for endogenous serum prolactin, albumin, and IgG are shown as markers of molecular mass.

Madre también clinicamente eutiroides.  
TSH de 308 mIU/L,  
con FT<sub>4</sub> normal

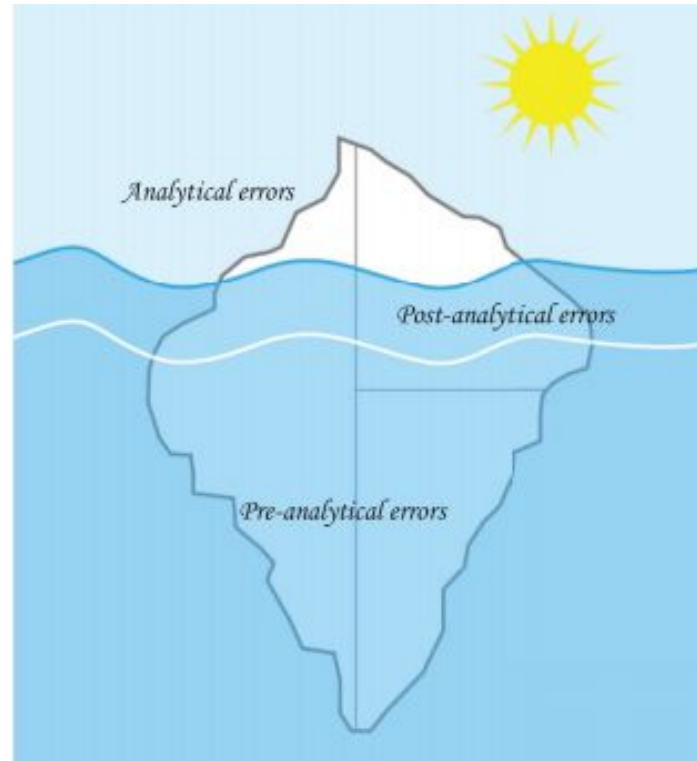
# Interferencias de pruebas de inmunoensayo de funcion Tiroidea: Interferencia por Macro TSH

- Macro-TSH es una forma circuclante grande de TSH compuesta de una forma monomeric de TSH unida con anticuerpos autoimunes anti-TSH (IgG).
- Prevalencia esta entre 0.6% to 1.6%

# Resumen

- Los errores de laboratorio son más frecuentes en la fase preanalítica
- Reconocer el riesgo de informar resultados laboratorio con errores
- Identificar las causas mas comunes que pueden ocasionar la liberacion de resultados con errores:
  - Causas Endogenas :
    - Hemolisis, Bilirrubina, Paraproteinas, Lipidos, Antic. Heterofilicos, macro formas, etc.
  - Causas Exogenas:
    - Medicacion, suplementos (vitaminas), contaminacion con aditivos, contaminacion con fluidos de la IV (NS, Dextrosa, etc.) or TPN/emulsion Lipidos.
- Establecer protocolos / reglas utilizando “middleware” o algoritmos en el POE para identificar las posibles interferencias.
- Determine cuándo se deben informar o no los resultados.

# Importancia de identificar los errores en la fase preanalítica y lograr mitigar la liberación de resultados erróneos



**Figure 1** The iceberg of laboratory errors.



# Muchas Gracias

## Preguntas y Discusión

**Jose C. Jara Aguirre, M.D., D(ABP), FASCP, FCAP.**

Assistant Professor of Pathology & Pediatrics Department

School of Medicine and Health Sciences, The George Washington University

Medical Director, Core Clinical Chemistry Laboratory & Point of Care Testing

Division of Pathology & Laboratory Medicine

Children's National Hospital, Washington DC

[jjaraaguir@childrensnational.org](mailto:jjaraaguir@childrensnational.org)

